

Influence de la nutrition sur l'activité de la glande pylorique de *Dendrodoa grossularia* (Ascidies, Tuniciers)

par Françoise GAILL *

Résumé. — L'influence de la nutrition sur les activités de la glande pylorique est étudiée chez *Dendrodoa grossularia*, *in vivo* et sur tissus fixés. L'inanition entraîne une modification du milieu intracellulaire des cellules pyloriques : l'autolyse observée normalement disparaît au cours du jeûne et réapparaît après réalimentation. L'activité de la glande est sous la dépendance de la nutrition : le cycle d'activité de la glande disparaît au cours de l'inanition et se trouve restauré après réalimentation des animaux.

Abstract. — The influence of nutritional states on the activities of the pyloric gland is studied in *Dendrodoa grossularia*, *in vivo* and in fixed tissues. Fasting causes a modification of the intracellular environment of the pyloric cells : the autolysis that is normally observed disappears during the period of fasting and reappears after the animal is fed again. The activity of the gland is dependant on the nutritional state ; the cyclic activity of the gland disappears during the course of fasting and is restored after the animals are refed.

Certains Invertébrés marins ont des annexes digestives dont le rôle demeure inconnu. C'est le cas des Tuniciers avec la glande pylorique dont les fonctions restent encore controversées. Cet organe forme, autour de l'intestin, un manchon constitué de tubules aveugles à une extrémité ; les tubules convergent vers un canal qui débouche dans la zone pylorique de l'estomac.

La disposition anatomique de l'organe a amené de nombreux auteurs à lui accorder une fonction digestive (GIARD, 1872 ; CHANDELON, 1875 ; ISERT, 1903). D'autres, s'appuyant sur des données histologiques ou expérimentales, lui ont attribué un rôle excréteur (LACAZE-DUTHIERS et DELAGE, 1889 ; COLTON, 1910 ; AZÉMA, 1937). Les hypothèses les plus récentes ont tenté de concilier les deux positions, soit en lui accordant un double rôle (FOUQUE, 1953), soit en voyant dans la glande pylorique l'homologue du foie des Vertébrés (ERMAK, 1977), soit enfin en lui attribuant un rôle dans la régulation du milieu intérieur (GAILL, 1977).

Les données sur lesquelles s'appuie l'hypothèse d'un rôle digestif sont peu nombreuses et l'un des moyens d'appréhender une fonction digestive est d'observer la glande pylorique après inanition. Nous nous sommes proposée d'étudier les conséquences de l'inanition

* Laboratoire de Biologie des Invertébrés marins et Malacologie. Muséum national d'Histoire naturelle, 55 rue de Buffon, 75005 Paris.

sur les aspects cellulaires de l'organe, *in vivo*, ou sur tissus fixés ; les observations dont nous disposions étant soit morphologiques (FOUQUE, 1953), soit limitées à la disparition de glyeogène après le jeûne (ЕРМАК, 1977). Ayant constaté des modifications d'activité de la glande pylorique, nous avons voulu observer si une reprise de l'alimentation rétablissait une activité normale. L'interprétation des résultats reposant sur la correspondance entre les aspects cellulaires et les stades d'activité, nous avons étudié les variations cellulaires au cours de la fixation et les modifications éventuelles de ces variations au cours du jeûne.

L'ensemble de ces expériences nous a amenée à dégager deux points essentiels, l'interdépendance de l'activité glandulaire et de la nutrition et les variations du milieu cellulaire de la glande pylorique au cours de son activité.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les expériences ont été réalisées à Roscoff sur *Dendrodoa grossularia*. Les animaux fraîchement récoltés ont été placés dans de l'eau de mer oxygénée et filtrée sur millipore (0,45 μm de diamètre) pendant une semaine. Les individus étaient de taille analogue et adultes. L'eau de mer était renouvelée tous les jours. Des animaux étaient fixés après 1, 2, 3, 5 et 8 jours de jeûne. Au-delà d'une semaine, le lot d'animaux restant était remis en eau courante. Le renouvellement de l'eau de mer courante était suffisant pour assurer la nutrition des animaux : la reprise de l'alimentation était visualisée par l'apparition de pelotes fécales dans le tube digestif des individus. Des fixations ont eu lieu sur ce lot 1, 2, 5 et 8 jours après la réalimentation.

Différentes fixations ont été effectuées (formol salé, glutaraldéhyde 6 % tamponné par du cacodylate 0,4 M) dont certaines spécifiques à la conservation de glyeogène (Gendre, Carnoy). Une partie des tubes digestifs fixés a été incluse à la paraffine et coupée à 7 μm pour mettre en évidence le glyeogène par la coloration PAS dimédon. Un contrôle a été fait à l'amylase salivaire. Une autre partie a été enrobée au Dureupan ACM, coupée à 1 μm , et colorée au bleu de toluidine.

L'effet des fixateurs a été comparé aux observations *in vivo*. Les pièces disséquées étaient soit observées directement dans le fixateur, soit dans l'eau de mer. L'eau de mer était absorbée par un morceau de buvard placé à une extrémité de la lamelle et progressivement remplacée par le fixateur déposé à l'autre extrémité de celle-ci. Les mêmes observations ont été faites sur des animaux injectés par le fixateur.

RÉSULTATS

RAPPELS MORPHOLOGIQUES

La glande pylorique de *Dendrodoa grossularia* est constituée d'une partie tubulaire distale et d'une partie ampullaire proximale. La portion tubulaire s'étend tout le long du tube digestif. Les tubules possèdent le long de leur parcours, comme à leur extrémité, des dilatations ampullaires. La région proximale de la glande est disposée autour de l'intestin moyen. Elle est formée d'ampoules jointives. Les portions ampullaires et tubulaires se réunis-

sent dans la région moyenne de l'intestin en formant des branches collectrices convergeant dans l'estomac par le canal pylorique (GAILL, 1977).

Les parois des ampoules et des tubules sont constituées de cellules polyédriques entourant une lumière centrale. Cette lumière est continue dans toute la glande (GAILL, 1977).

1. Observations in vivo

a. — *Aspects de la glande pylorique d'animaux nourris*

La paroi des ampoules est constituée de cellules de forme variable, aplatie ou renflée. Les cellules situées à l'extrémité distale de l'ampoule font saillie dans la lumière. Elles portent un bouquet de flagelles qui par leurs battements font circuler un liquide vers les portions collectrices.

Dans certains cas, la forme ovoïde des cellules peut être attribuée à la présence d'une vacuole volumineuse. Les cellules aplaties sont nombreuses dans les parties renflées des ampoules et des dilatations tubulaires. Il est parfois difficile de distinguer l'épaisseur même des cellules : la glande présente certaines régions qui paraissent dépourvues de cellules. Ces portions représentent toujours une surface réduite.

Alors que le pourcentage de cellules renflées ou aplaties est variable d'une ampoule à l'autre, les cellules tubulaires sont, dans l'ensemble, cubiques. Elles portent des cils, plus courts que les flagelles des ampoules, qui font circuler un liquide allant des portions distales vers les portions collectrices de la glande.

Cet aspect initial varie dans le temps ; il se produit rapidement après le début du montage dans l'eau de mer une autolyse des cellules pyloriques. Cette autolyse est localisée à la glande pylorique et ne survient dans les tissus avoisinants qu'après une très longue période.

L'autolyse débute par un gonflement cellulaire ; des granules intracellulaires sont animées d'un mouvement désordonné, le cytoplasme s'empâte, la cellule éclate et le contenu cellulaire se déverse dans la lumière de la glande. Cet éclatement, localisé initialement à une cellule, se propage parfois de proche en proche, et cinq à six cellules éclatent successivement. L'emplacement cellulaire initial reste vide. Les cellules situées de part et d'autre de cette zone ne sont pas modifiées. La lumière de la glande est encombrée de débris cellulaires. Ces phénomènes sont très fréquents dans les ampoules et les dilatations tubulaires. Ils sont plus rares dans les tubules.

b. — *Aspects de la glande pylorique d'animaux en inanition*

Les deux premiers jours de jeûne, les processus d'éclatements successifs sont comparables à ce que l'on observe chez les animaux normalement nourris. Après trois jours, la forme des cellules pyloriques se modifie et les processus autolytiques disparaissent progressivement. Quelle que soit la période d'observation, il existe des portions glandulaires apparemment dépourvues de cellules, la disparition des cellules étant toujours antérieure à nos observations.

L'épaisseur de l'épithélium pylorique diminue entre 3 et 5 jours de jeûne pour se stabiliser ensuite. Cette réduction est plus nette dans les ampoules qui sont normalement

pourvues de cellules renflées. Les cellules tubulaires conservent après une semaine d'expérience une hauteur supérieure à celle des cellules ampullaires.

Les gonflements et les éclatements cellulaires disparaissent à partir du cinquième jour. L'autolyse des cellules pyloriques n'apparaît qu'après une longue période d'observation : elle se manifeste alors dans l'ensemble des tissus.

Les autres modifications observées concernent le battement flagellaire qui est ralenti après 3 jours d'expérience.

c. — *Aspect de la glande pylorique d'animaux réalimentés*

Après une semaine d'inanition, la glande pylorique d'animaux remis en eau courante, conserve le premier jour l'aspect qui vient d'être décrit.

Dès le second jour, les gonflements cellulaires réapparaissent et quelques cellules éclatent. Les processus autolytiques s'accroissent par la suite. Au cinquième jour, ils se déroulent comme chez les animaux nourris normalement. Après une semaine de réalimentation, les cellules pyloriques n'ont pas retrouvé entièrement leur hauteur initiale. Dès que les gonflements cellulaires réapparaissent, les battements flagellaires sont à nouveau visibles et l'on peut percevoir la circulation d'un liquide à travers la lumière de la glande.

En conclusion, l'inanition entraîne un aplatissement progressif des parois de la glande pylorique. Les gonflements et les éclatements cellulaires observés normalement disparaissent. L'organe prend un aspect quiescent, uniforme et inactif.

La nutrition restaure rapidement l'activité de la glande.

2. Action de divers fixateurs sur les aspects cellulaires

a. — *Chez des animaux alimentés normalement*

Les processus autolytiques qui se déroulent dans la glande pylorique sont analogues, que le milieu de montage soit l'eau de mer ou le glutaraldéhyde. Dans les deux cas, les éclatements cellulaires ont lieu dans les mêmes portions glandulaires et concernent des surfaces comparables. Ces caractéristiques sont conservées lorsque le fixateur est directement injecté dans l'animal.

Les seules différences portent sur la rapidité avec laquelle les processus se déroulent. Plus le fixateur arrive rapidement au contact des cellules et plus l'autolyse est rapide.

Ces processus sont par contre modifiés avec le formol salé, quelles que soient les modalités d'introduction du fixateur, la fixation est immédiate : le cytoplasme coagule et il se produit une rétraction cellulaire. Les parois de l'organe paraissent alors plus minces que dans l'eau de mer. Des plages vides sont observées dans certaines parties de la glande comme avec la fixation au glutaraldéhyde alors que les parties dégénérées sont plus réduites.

b. — *Chez les animaux mis en inanition et réalimentés*

La pénétration du glutaraldéhyde n'entraîne pas de modifications notables par rapport aux aspects décrits *in vivo* : les éclatements cellulaires disparaissent progressivement au cours du jeûne pour réapparaître après une réalimentation.

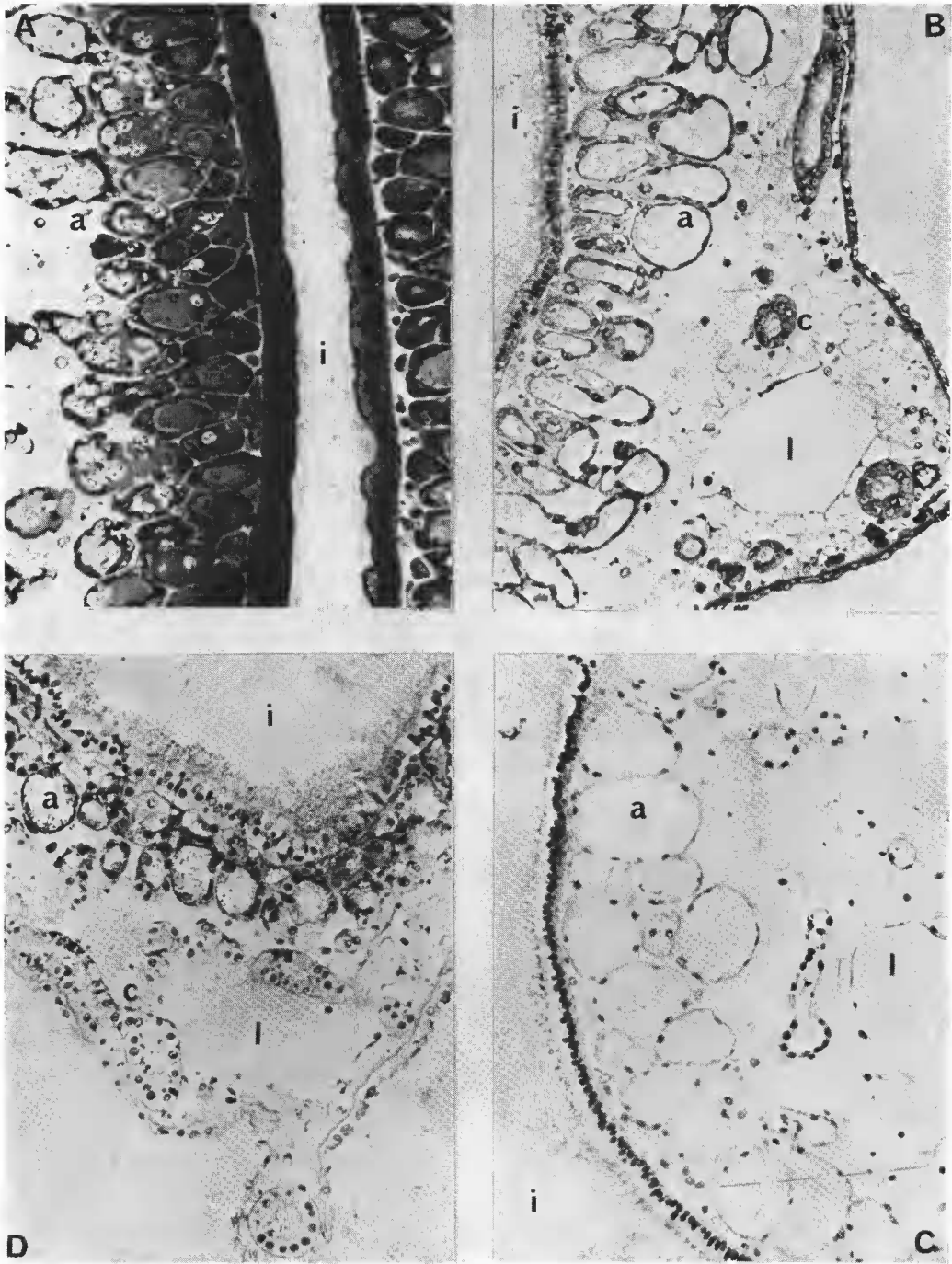


FIG. 1. — Les ampoules pyloriques autour de l'intestin (1 cm équivaut à 50 μ m) : A, chez les animaux nourris normalement ; B, après trois jours d'inanition ; C, après une semaine d'inanition ; D, après une semaine de réalimentation.

a : ampoule pylorique ; c : branches collectrices ; i : intestin ; l : lacune sanguine.

Quelles que soient les conditions de nutrition des animaux, le formol provoque une rétraction cellulaire et c'est chez les animaux en inanition que l'aspect de la glande se rapproche le plus de celle qui est observée *in vivo*.

En conclusion, le glutaraldéhyde est le meilleur fixateur : son influence modifie peu les aspects cellulaires du tissu vivant.

3. Observations histologiques de la glande pylorique

Rappelons brièvement les principaux aspects sous lesquels se présentent normalement les cellules pyloriques de *Dendrodoa grossularia* ; quatre stades ont déjà été décrits (GAILL, 1977) (fig. 1, A et fig. 2, A).

Le stade 1 se caractérise par une forme cubique, un noyau rond à chromatine marquée, une bordure en brosse et de faibles quantités de glycogène. Le stade 2 se caractérise par une modification nucléaire, le contenu du noyau devenant homogène. La bordure en brosse disparaît au stade 3, le noyau se contracte et le cytoplasme devient très basophile. Enfin on assiste au stade 4 au déversement du contenu cellulaire dans la lumière de la glande. Nous attribuons les plages vides à des portions glandulaires déjà dégénérées. Les quantités de glycogène intracellulaire augmentent du stade 1 au stade 4 (fig. 3).

a. — Aspects cellulaires de la glande pylorique au cours d'une semaine de jeûne (fig. 3)

Le cycle d'activité normal subsiste les deux derniers jours d'inanition. Le nombre de stades cellulaires décroît au fur et à mesure que croît la période d'inanition. Les stades 2 et 3 disparaissent après le 3^e jour d'expérience et deux aspects demeurent. Le premier (0) (fig. 3) est analogue au stade 1, le second (5) (fig. 3) est équivalent à la fin du stade 4. Le stade 0 diffère du stade 1 par la forme prismatique des cellules et l'absence de glycogène. La bordure en brosse est peu visible. Le noyau a un faible diamètre et la chromatine * est peu marquée. Le second stade, 5, correspond à des places vides (fig. 3).

Au cinquième comme au huitième jour d'expérience, la glande a partout un aspect uniforme : les places vides sont rares et l'ensemble des cellules sont au stade 0 (fig. 1, C).

La hauteur des cellules passe dans les ampoules de 15 à 10 μm le 3^e jour pour rester à 5 μm après cinq jours d'expérience. L'emplacement des cellules ne se repère que grâce à la présence des noyaux qui paraissent contractés. Le glycogène diminue après 3 jours et au bout d'une semaine de jeûne, des ampoules en sont pratiquement dépourvues. La substance colloïdale hétérogène (fig. 1, A), initialement observée dans la lumière glandulaire (GAILL, 1977), devient homogène par la suite (fig. 1, B), pour diminuer en densité après une semaine d'expérience (fig. 1, C).

Les conséquences de l'inanition sont moins manifestes dans les tubules (fig. 2, B) où les stades 3 et 4 sont normalement peu nombreux. On distingue cependant les mêmes stades 0 à 5 que dans les ampoules. L'épaisseur de l'épithélium ampullaire reste à 10 μm après une semaine de jeûne (fig. 2, B).

Les autres modifications constatées de l'inanition sont déjà été mentionnées par FOUQUE (1953) : il s'agit de modifications morphologiques affectant la distance séparant les ampoules pyloriques de l'intestin moyen. Cette distance augmente après une semaine de jeûne alors que les deux structures sont normalement en contact.

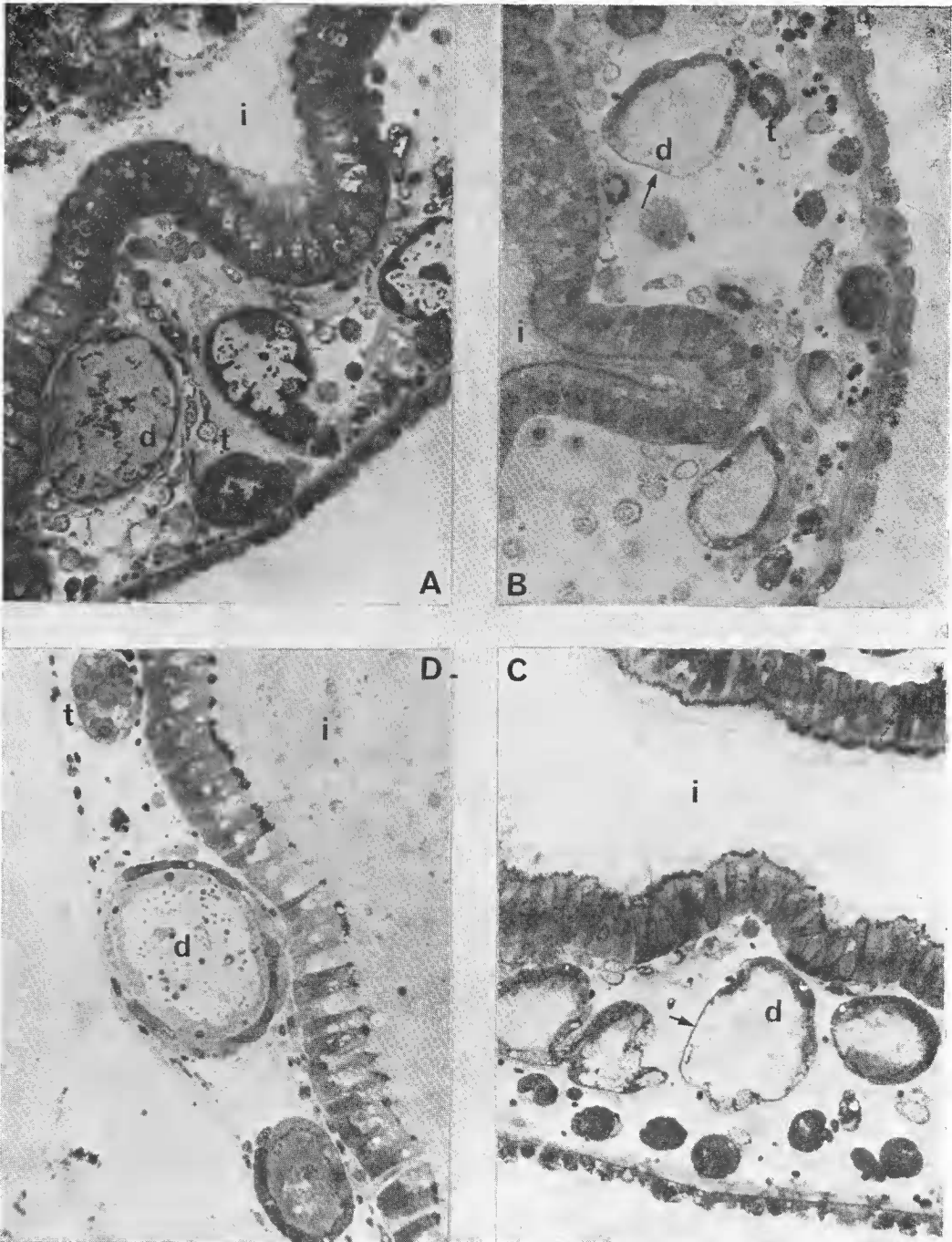


FIG. 2. — Les tubules pyloriques autour de l'intestin (1 cm équivaut à 25 μ m) : A, chez les animaux nourris normalement ; B, après trois jours d'inanition ; C, après 3 jours de réalimentation ; D, après 5 jours de réalimentation.

d : dilatation terminale ; i : intestin ; t : tubule pylorique ; la flèche indique les zones dépourvues de cellules.

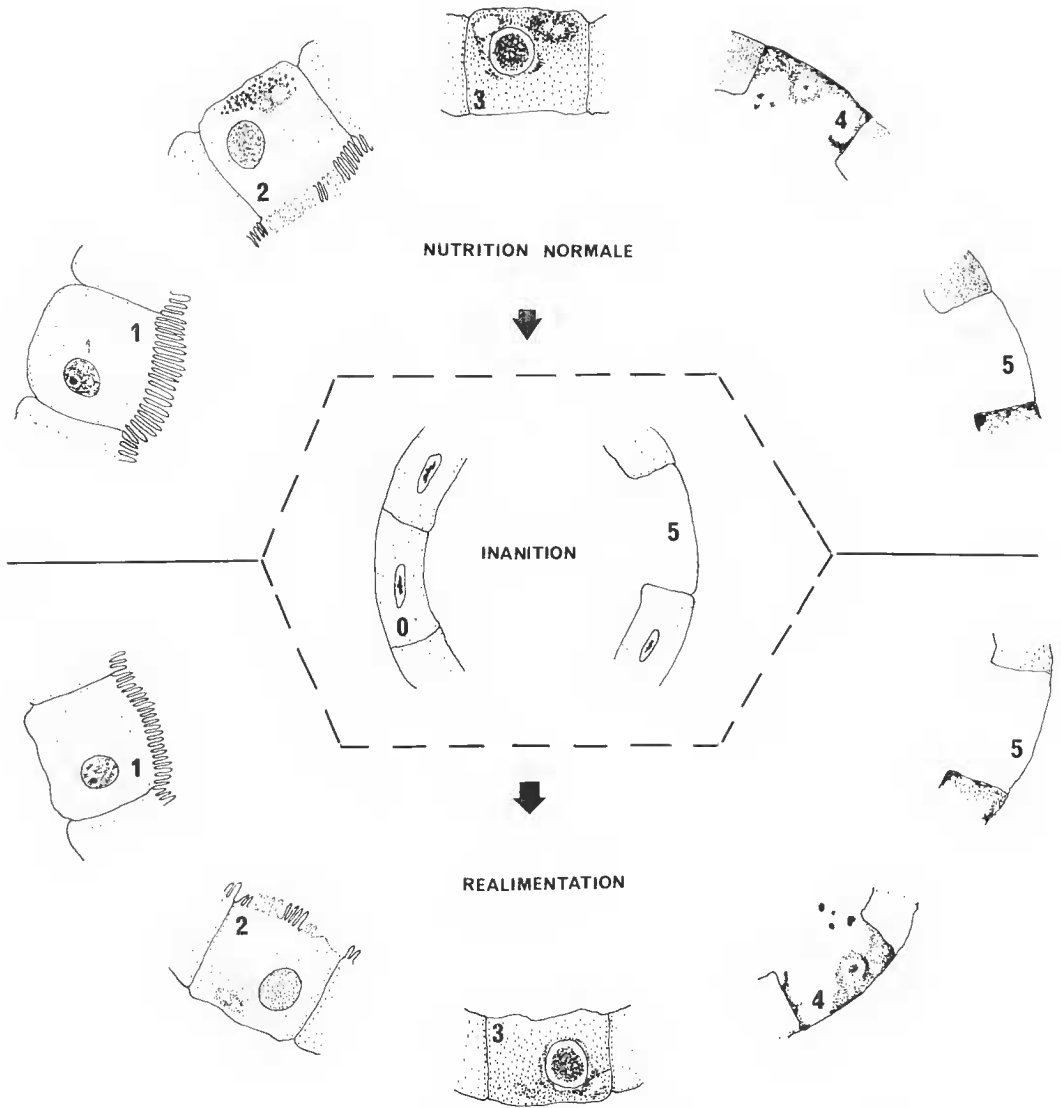


FIG. 3. — Schéma de l'évolution des aspects cellulaires de la glande pylorique chez des animaux nourris normalement, mis en inanition, puis réalimentés.

Les éléments sanguins visibles initialement dans la lumière tubulaire ou entrant par diapédèse entre les cellules pyloriques sont encore nombreux au 3^e jour d'expérience. Ces images disparaissent par la suite.

En conclusion, le cycle d'activité de la glande pylorique disparaît chez les animaux en inanition : toutes les cellules prennent un aspect semblable (fig. 3).

b. — *Aspects cellulaires de la glande pylorique d'animaux réalimentés* (fig. 3)

L'activité de la glande reprend progressivement à partir du second jour de réalimentation : elle se manifeste d'abord par une plus forte densité des éléments colloïdaux présents dans la lumière (fig. 2, C), puis par la réapparition des quatre stades cellulaires à partir du cinquième jour (fig. 2, D). Après une semaine, malgré la réapparition du cycle normal d'activité, l'épithélium pylorique n'a pas recouvré entièrement sa hauteur initiale (fig. 1, D). Nous n'avons pas observé de variations importantes des quantités de glycogène : après 8 jours d'alimentation, les taux de glycogène de la glande pylorique restent très faibles.

En dehors de ces modifications, les parties où les cellules sont dégénérées, sont réparties de la même façon que chez des animaux nourris normalement. La distance qui sépare les ampoules de l'épithélium intestinal, diminue progressivement et au 5^e jour d'expérience elles sont à nouveau au contact du tube digestif.

Les canaux collecteurs comme les branches pyloriques ne présentent pas de modifications particulières ni au cours du jeûne, ni même après une réalimentation.

En conclusion, la nutrition restaure l'activité de la glande pylorique d'animaux ayant jeûné.

DISCUSSION

1. Relations entre la nutrition et l'activité de la glande pylorique

Nos expériences montrent que l'activité de la glande pylorique dépend de l'état de nutrition des animaux : l'inanition inhibe cette activité alors que l'alimentation la stimule.

Cette activité n'est pas restaurée dès le premier jour de réalimentation, ce qui signifie que ce n'est pas directement l'alimentation qui est l'agent stimulateur, mais plus probablement l'absorption intestinale : en effet, il faut 24 heures pour que le cordon alimentaire progresse de l'œsophage vers l'intestin (YONGE, 1925) et c'est après cette période que réapparaissent les premiers signes d'activité glandulaire. De même, l'activité diminue à la fin du second jour d'inanition, et l'on sait qu'il faut plus de 24 heures pour que l'ensemble des fèces soit éliminé par l'animal (FIALLA-MEDIONI, 1974).

Soulignons que l'inhibition de l'activité glandulaire lors de l'inanition concerne les parties dilatées de la glande, qu'elles soient distales ou proximales, au contact de l'intestin comme autour des lacunes sanguines. Ceci montre que si l'absorption stimule l'activité de la glande, cette stimulation a lieu indépendamment de la proximité du tube digestif et souligne l'unité fonctionnelle de l'organe.

2. La dégénérescence de la glande pylorique

Les observations histologiques faites sur la glande pylorique d'animaux nourris normalement nous ont amenée à conclure que la dégénérescence observée était due à une sénescence naturelle (GALL, 1977) et non à une sécrétion holoérine comme le pensait AZÉMA (1937). À la lumière des expériences ci-dessus, nous pensons maintenant qu'une sénescence naturelle existe bien, mais qu'il s'y ajoute une autolyse due à l'intervention sur l'animal. La sénescence naturelle correspond aux plages vides observées indépendamment des conditions d'expériences.

L'autolyse n'est pas due aux fixateurs puisqu'on l'observe également *in vivo*. Elle n'est pas due non plus à la dissection puisqu'elle n'a pas lieu sur des animaux en inanition.

La coïncidence entre les zones pyloriques autolysées et les parties dégénérées nous conduit à penser que la fragilité différente des cellules ne serait que l'expression de leur stade d'activité respectif. Selon leur activité, les cellules pyloriques auraient une perméabilité plus ou moins grande aux substances dissoutes. Tout déséquilibre des conditions osmotiques ou ioniques, comme un contact avec l'eau de mer, perturberait le fonctionnement cellulaire conduisant à l'éclatement des cellules.

L'action de ce déséquilibre sur les cellules serait plus ou moins importante suivant leur stade d'activité, ce qui expliquerait des réactions différentes des cellules pyloriques.

Cette hypothèse est confirmée par le fait que l'inhibition de l'activité glandulaire s'accompagne de la disparition de ces phénomènes : dans les conditions d'inanition, le contact de l'eau de mer avec les cellules pyloriques n'entraîne aucune perturbation. Le milieu de la glande est probablement en équilibre avec le milieu intérieur de l'animal. Les déséquilibres réapparaissent dès que l'activité glandulaire se manifeste, c'est-à-dire chez des animaux réalimentés.

3. Le rôle de la glande pylorique

Nous avons vu qu'il était difficile de parler de foie chez les Invertébrés étant donné la diversité des rôles que cet organe remplit chez les Vertébrés (GAILL, sous press). ERMAK (1977) chez une espèce de la même famille, *Styela clava*, a observé la disparition du glycogène dans la glande pylorique. La disparition du glycogène au cours du jeûne est plus rapide que sa restauration. Il est possible que les animaux en élevage soient sous-alimentés par rapport aux conditions dans lesquelles ils vivent naturellement. Si l'utilisation du glycogène au cours du jeûne est compatible avec une fonction hépatique comme la fonction glycoénergétique, il faut cependant noter que la disparition de glycogène chez des animaux placés en inanition s'observe dans tous les organes y compris ceux qui n'ont pas une fonction hépatique.

CONCLUSIONS

Nos résultats expérimentaux nous permettent de dire que la stimulation de l'activité glandulaire a lieu par l'intermédiaire de la nourriture absorbée. L'activité des cellules pyloriques s'accompagne d'un changement du milieu intracellulaire qui diffère alors du milieu intérieur de l'animal. Les sécrétions de la glande pylorique sont conduites par les battements ciliaires vers l'estomac. Il est possible que la glande pylorique recevant des informations sur la composition de la nourriture ait une action rétroactive sur l'absorption intestinale : elle modifierait par ses sécrétions, les conditions dans lesquelles se déroule la digestion.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AZÉMA, M., 1937. — Recherches sur le sang et l'excrétion chez les Ascidies. *Annls Inst. océanogr.*, **17** : 1-150.
- GMANDELON, T., 1875. — Recherches sur une annexe du tube digestif des Tuniciers. *Bull. Acad. r. Belg.*, **29** : 911-948.
- COLTON, H. S., 1910. — The pyloric gland of the Aseidian *Botryllus* an organ of excretion ? *Biol. Bull. mar. biol. Lab., Woods Hole*, XIX^e : 35-52.
- ERMAK, T. II., 1977. — Glycogen deposits in the pyloric gland of the Aseidian *Styela clava* (Urochordata). *Cell. Tiss. Res.*, **176** : 47-55.
- FIALLA MEDIONI, A., 1974. — Éthologie alimentaire d'Invertébrés benthiques filtreurs (Ascidies). II. Variation des taux de filtration et de digestion en fonction de l'espèce. *Mar. Biol.*, **28** : 199-206.
- FOUQUE, G., 1953. — Contribution à l'étude de la glande pylorique des Aseidiacea. *Annls Inst. océanogr.*, **5** : 1-137.
- GAILL, F., 1977. — Morphologie et histologie de la glande pylorique des Styelidae (Ascidies). *Bull. Mus. natn. Hist. nat., Paris*, n° 491, Zool. 340 : 1041-1055.
- Sous presse. — Glycogen and degeneration in the pyloric gland of *Dendrodoa grossularia* (Asidiacea-Tunicata). *Tiss. cell. Res.*
- GIARD, H., 1872. — Recherches sur des Aseidies composées ou Synascidies. *Archs Zool. exp. gén.*, **1** : 501-704.
- ISERT, A., 1903. — Untersuchungen über den Bau der Drüsenänge des Darm bei den Monaseidien. *Archiv. für Naturg.*, **69** : 237-296.
- LACAZE-DUTHIERS, H. DE, et Y. DELAGE, 1889. — Étude anatomique et zoologique sur les Cythiades. *Archs Zool. exp. gén.*, **7** : 519.
- YONGE, C. M., 1925. — Studies on the comparative physiology of digestion. III. Secretion, digestion and assimilation in the gut of *Ciona intestinalis*. *Br. J. exp. Biol.*, **2** : 373-388.

Manuscrit déposé le 1^{er} juin 1979.

